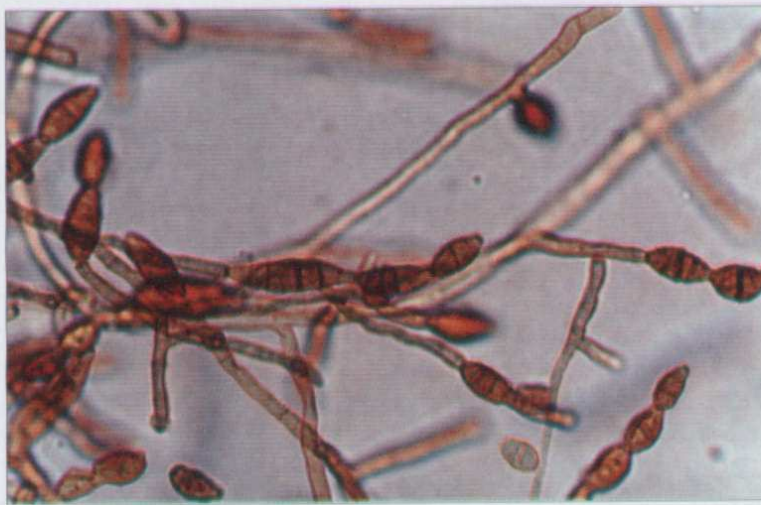


Calidad Microbiológica Ambiental en el Campus Universitario

DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE AGUASCALIENTES

Dr. Francisco José Flores Tena ¹
M. en C. Lidia Marisela Pardavé Díaz ²
IBQ. María Teresa Alonso Hernández ²



INTRODUCCIÓN

El presente estudio surgió por la necesidad de aportar datos objetivos de la calidad microbiológica del campus universitario, ya que se sospechaba que la aplicación anual de abono orgánico en forma de excremento de ganado y el olor que ocasionalmente emanaba de la planta tratadora de aguas residuales impactaban negativamente la calidad microbiológica del aire, agua y jardines del campus. Aunque no existen datos de tipo epidemiológico, era frecuente observar en los meses de febrero y marzo una mayor incidencia de enfermedades en el tracto respiratorio, infecciones oculares y enfermedades gastrointestinales en alumnos, profesores y personal administrativo.

En la literatura científica existen varios trabajos relacionados con la calidad microbiológica del agua, aire y sustratos sólidos, siendo más abundantes los primeros, ya que existe una normatividad específica para los diferentes parámetros que definen su calidad y su uso. Por lo que se refiere a la calidad microbiológica del aire, se han realizado varios estudios en donde se señala su densidad y composición; entre los ambientes en que se han encontrado mayor número de bacterias patógenas están los campos abonados con lodos de plantas de tratamiento (Pillai et al., 1996), áreas cercanas a plantas de tratamiento (Brandi et al., 2000) y muy probablemente en campos donde se utiliza estiércol de ganado como abono orgánico. El suelo es uno de los sustratos preferidos por muchos microorganismos, por lo que su riqueza frecuentemente tiene un significado de una gran fertilidad, sin embargo la presencia de ciertas especies, principalmente las patógenas, en áreas como los jardines en las que se tiene contacto directo con la población, constituyen un

1 Biología, Centro de Ciencias Básicas, Tel. 910-84-04
e mail: fflorest@correo.uaa

2 Biología, Centro de Ciencias Básicas, Tel. 910-84-04

peligro para la salud. Entre las bacterias patógenas reportadas por diversos investigadores se encuentran *Salmonella*, *Citrobacter*, *Clostridium*, *Proteus*, *Enterobacter*, estafilococos y estreptococos fecales.

Los estudios realizados en México sobre este tipo de problemática, tienen una difusión muy puntual, cuando más alcanza difusión local, por lo que es difícil obtener información en índices. Revisando páginas web de universidades nacionales, se encontró información superficial al respecto, varias universidades utilizan aguas tratadas para el riego de sus áreas verdes, pero no presentan datos sobre el impacto del uso de esta agua en el ambiente y en la salud.

MATERIAL Y MÉTODOS

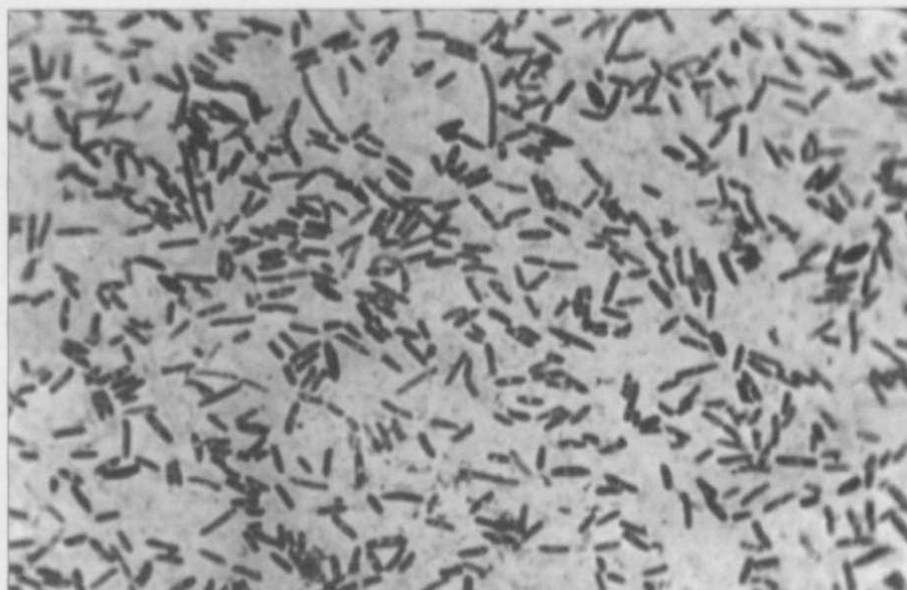
Para la realización de este estudio se seleccionaron cuatro puntos de muestreo cuya ubicación se presenta en la Figura 1. El período de muestreo se inició en febrero de 2002 y concluyó en junio de 2003, para abarcar dos temporadas de fertilización de los jardines y de vientos fuertes. Se realizaron 15 muestreos para conocer la calidad microbiológica del agua y del pasto y 30 muestreos, 15 diurnos y 15 vespertinos para evaluar la calidad microbiológica del aire en cada punto de muestreo.

Para los análisis microbiológicos de agua de riego se tomaron muestras en frascos estériles

directamente de las llaves en los puntos de muestreo, posteriormente se determinó el NMP de coliformes totales y coliformes fecales mediante la técnica de diluciones (APHA, AWWA, WPCF, 1995).

Para el análisis microbiológico del pasto se tomaron tres submuestras de los jardines adyacentes al punto de muestreo en bolsas estériles, una muestra mixta de 2 g fue colocada en un matraz con agua estéril, posteriormente se tomaron alicuotas de 0.1 y 1.0 ml y se inocularon en Agar Nutritivo (medio enriquecido) y en medios selectivos (Agar verde brillante y Medio KF), se incubaron a 30°C durante 24 horas al término de las cuales se realizó el conteo de colonias.

El análisis del aire incluyó a bacterias y hongos. Para el muestreo de las bacterias se utilizó un muestreador de pequeño volumen, por el que se hizo pasar durante 60 minutos un flujo de aire de 1.5 l por minuto a través de un buffer de fosfatos (Lin et al., 1999), posteriormente se tomaran alicuotas de 1.0 ml para inocularse en cajas de Petri con medio agar soya tripticasa adicionado con 0.5 mg/ml de cicloheximida, para el conteo de bacterias totales, también se inocularon en medios selectivos como agar verde brillante para coliformes, KF para coliformes fecales y Estafilococos 110 para estafilococos. Se incubaron a 25°C en la obscuridad durante 24-48 horas. Una vez desarrolladas y contadas las colonias se realizó



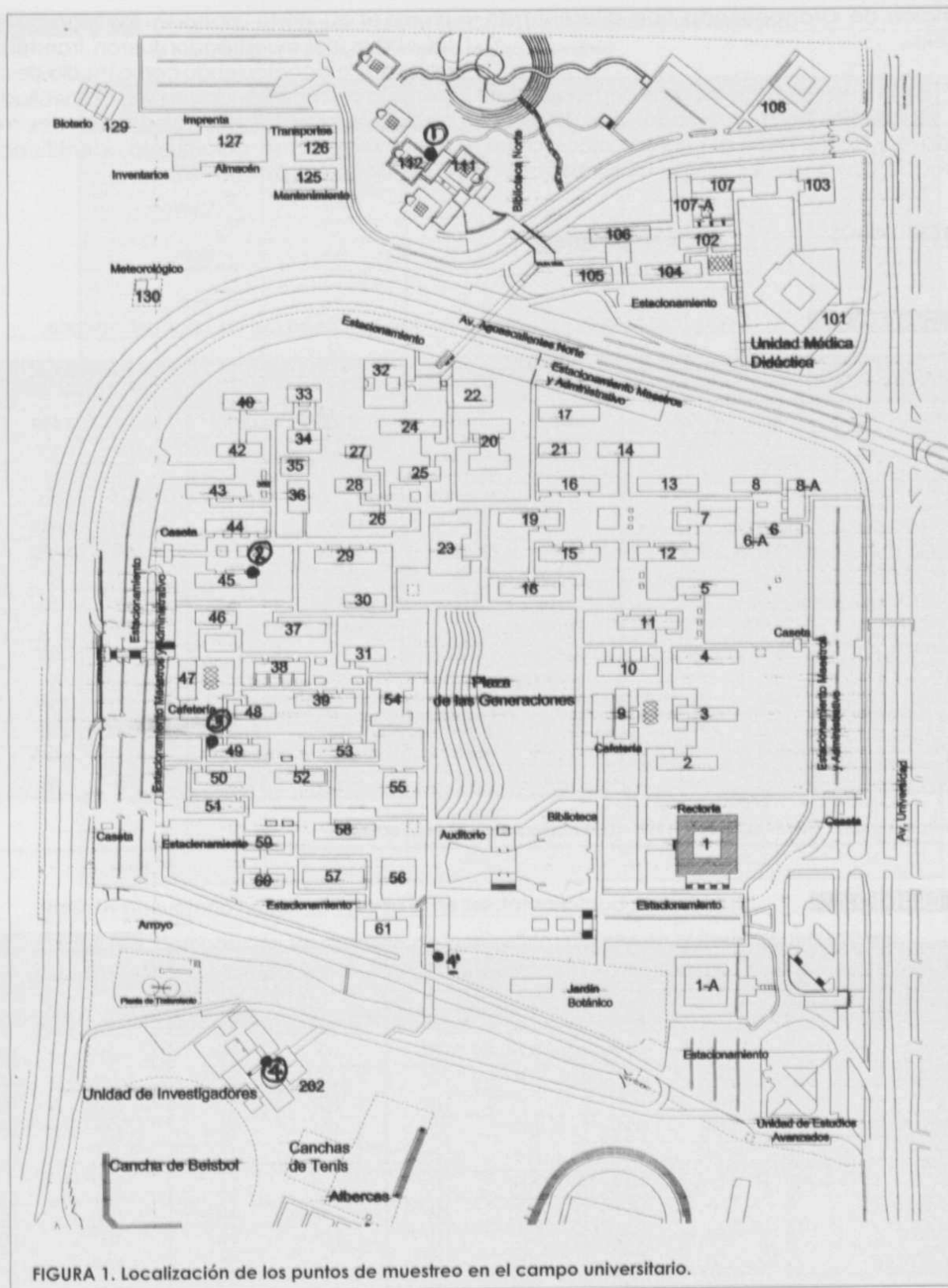


FIGURA 1. Localización de los puntos de muestreo en el campo universitario.

la tinción de Gram a cada tipo diferente de colonia.

Para la colección de esporas de hongos del aire se empleó un muestreador tipo Rotorod (Pardavé y Flores, 1997), el cual se colocó a dos metros de altura por ser éste el nivel respiratorio

(Rosas et al., 1994). Las partículas impactadas en las varillas del muestreador fueron transferidas a cajas de Petri conteniendo como medio de cultivo extracto de malta agar, una vez desarrolladas las colonias fueron transferidas a diferentes medios selectivos para su aislamiento, identificación y cuantificación (Smith, 1990).

RESULTADOS

CUADRO 1. Coliformes totales y fecales en el agua de riego del campus universitario.

MES	Estación 1		Estación 2		Estación 3		Estación 4	
	Totales	Fecales	Totales	Fecales	Totales	Fecales	Totales	Fecales
Febrero	11,000	11,000	11,000	1,500	11,000	4,600	15,000	2,300
Marzo	2,400	<30	11,000	150	46,000	1,100	4,600	150
Abril	1,500	150	15,000	40	2,800	150	11,000	40
Mayo	230	<30	11,000	40	11,000	110	2,400	<30
Junio	110	<30	11,000	40	4,600	930	240,000	2,800
Agosto	2,400	<30	15,000	2,400	2,400	<30	4,600	2,400
Septiembre	1,500	<30	46,000	40	750	<30	15,000	40
Octubre	2,400	210	930	150	150,000	1,100	24,000	110
Noviembre	110,000	430	46,000	150	46,000	4,600	2,400	210
Diciembre	40	40	2,400	150	2,400	2,400	4,600	1,500
Enero	930	90	430	430	430	70	430	90
Febrero	210	210	2,400	40	230	230	24,000	750
Marzo	460	40	1,100	90	2,400	230	11,000	230
Mayo	1,500	150	15,000	4,600	24,000	11,000	24,000	4,600
Junio	240	<30	2,400	90	24,000	4,600	1,100	<30

Norma mexicana NOM-003-ECOL-1997 1000 coliformes fecales/100 ml

CUADRO 2. Densidad de bacterias totales en el aire (UFC/m³) en campus universitario.

MES	Estación 1		Estación 2		Estación 3		Estación 4	
	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde
Febrero	10 ²	10 ²	10 ²	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁵	10 ²	10 ²
Marzo	10 ^{4*}	10 ^{4*}	10 ⁴	10 ⁴	10 ^{5*}	10 ^{6*}	10 ^{5*}	10 ^{6*}
Abril	10 ⁵	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁵	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁵	10 ⁵
Mayo	10 ⁵	10 ⁵	10 ³	10 ³	10 ⁵	10 ²	10 ³	10 ³
Junio	10 ⁵	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁵	10 ⁵	10 ³	10 ⁴
Agosto	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³	10 ⁵	10 ³	10 ³	10 ³
Septiembre	10 ³	10 ⁵	10 ⁴	10 ³	10 ³	10 ³	10 ⁵	10 ³
Octubre	10 ³	10 ³	10 ³	10 ⁴	10 ⁴	10 ³	10 ³	10 ⁴
Noviembre	10 ³	10 ⁴	10 ³	10 ⁵	10 ³	10 ³	10 ⁵	10 ⁴
Diciembre	10 ³	10 ⁴	10 ⁴	10 ³	10 ³	10 ³	10 ⁴	10 ⁵
Enero	10 ⁴	10 ³	10 ⁵	10 ⁴	10 ⁴	10 ³	10 ⁴	10 ⁴
Febrero	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ³	10 ⁵	10 ⁵	10 ⁴	10 ⁴
Marzo	10 ³	10 ⁴	10 ³	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ³
Abril	10 ⁴	10 ³	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴
Mayo	10 ⁴	10 ³	10 ⁵	10 ⁴	10 ⁴	10 ³	10 ⁴	10 ³

UFC = Unidades formadoras de colonias

* = presencia de coliformes fecales

CUADRO 3. Densidad de hongos del aire (UFC/m³) en el campus universitario

M = mañana, T = tarde, s.d. = no se realizó muestreo

Mes	Hora	Estación 1	Estación 2	Estación 3	Estación 4
Febrero	M	43.5	10.5	7.5	3
	T	6	6	7.5	4.5
Marzo	M	3	1.5	6	1.5
	T	3	3	6	3
Abril	M	9	s.d.	6	s.d.
	T	s.d.	4.5	s.d.	1.5
Mayo	M	s.d.	s.d.	s.d.	s.d.
	T	15	4.5	21	3
Junio	M	6	15	13.5	3
	T	3	7.5	7.5	1.5
Agosto	M	9	4.5	1.5	3
	T	3	1.5	4.5	0
Septiembre	M	0	21	0	0
	T	0	1.5	0	1.5
Octubre	M	1.5	19.5	1.5	18
	T	0	3	0	7.5
Noviembre	M	3	1.5	0	0
	T	1.5	1.5	1.5	1.5
Diciembre	M	0	16.5	0	3
	T	0	12	1.5	4.5
Enero	M	3.0	6.0	4.5	0
	T	7.5	1.5	1.5	1.5
Febrero	M	0	0	1.5	4.5
	T	3.0	1.5	1.5	1.5
Marzo	M	1.5	6.0	1.5	0
	T	4.5	1.5	1.5	1.5
Mayo	M	0	1.5	1.5	1.5
	T	3.0	1.5	3.0	0
Junio	M	3.0	1.5	0	4.5
	T	42.0	1.5	4.5	0

CUADRO 4. Composición taxonómica de la micoflora del aire en el campus universitario.

Taxa	2002										2003				
	f	m	a	m	j	a	s	o	n	d	e	f	m	m	j
Cladosporium herbarum	X	X	X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Alternaria alternata	X	X	X	X	X					X	X	X		X	
Alternaria tenuissima	X	X													
Phoma sp		X									X		X		
Aspergillus sp						X									
Aspergillus flavus												X			
Aspergillus niger								X		X				X	
Curvularia sp		X			X	X		X				X		X	
Fusarium sp								X	X						
Mucor sp								X							
Nigrospora sp									X		X				
Botrytis sp					X		X		X	X		X	X		
Penicillium sp	X				X					X	X			X	X
Helminthosporium sp									X		X	X	X		
Epicoccum sp									X		X	X			
No identificadas	X	X			X			X				X			2X
Número de especies	5	6	2	1	6	3	2	6	5	6	7	7	5	4	4

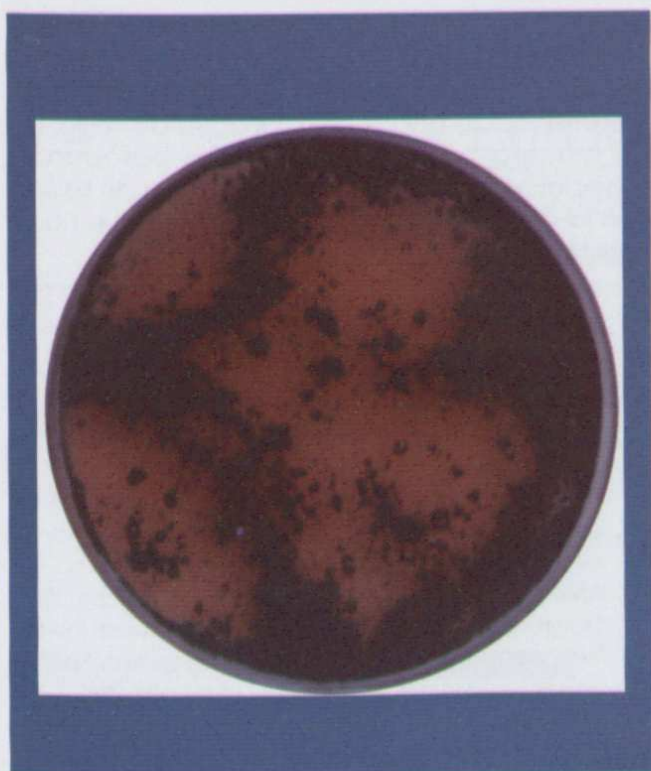
CUADRO 5. Densidad de bacterias coliformes en el pasto del campus universitario.

MES	ESTACIÓN 1		ESTACIÓN 2		ESTACIÓN 3		ESTACIÓN 4	
	Coliformes Totales	Coliformes Fecales	Coliformes Totales	Coliformes Fecales	Coliformes Totales	Coliformes Fecales	Coliformes Totales	Coliformes Fecales
FEB.	6.05×10^4	$< 10^2$	2.29×10^5	$< 10^2$	5.50×10^4	$< 10^2$	5.20×10^4	$< 10^2$
MAR.	4.22×10^5	10^2	1.49×10^5	$< 10^2$	1.51×10^5	$< 10^2$	9.03×10^3	$< 10^2$
ABR.	1.01×10^7	10^4	1.37×10^6	10^4	1.05×10^7	10^4	1.04×10^6	10^4
MAY.	7.00×10^5	10^4	2.25×10^7	10^4	5.80×10^6	10^4	2.00×10^7	10^4
JUN.	7.85×10^6	10^4	1.25×10^7	10^4	1.40×10^7	10^4	4.54×10^6	10^4
AGO.	3.37×10^6	10^3	1.72×10^7	10^4	4.62×10^6	10^3	1.78×10^7	10^4
SEP.	2.48×10^7	10^3	7.40×10^5	10^3	1.65×10^6	10^3	5.32×10^6	10^3
OCT.	1.30×10^7	10^4	1.75×10^7	10^3	8.73×10^6	10^4	2.30×10^3	
NOV.	1.37×10^7	10^4	9.85×10^6	10^3	8.33×10^6	10^3	2.41×10^7	10^3
DIC.	1.15×10^7	10^4	1.09×10^7	10^4	4.63×10^6	10^4	2.24×10^7	10^4
ENE.	1.07×10^7	10^4	5.56×10^6	10^4	7.96×10^6	10^4	3.75×10^7	10^4
FEB.	2.34×10^7	10^4	2.16×10^7	10^4	1.91×10^7	10^3	5.63×10^7	10^5
MAR.	4.40×10^4	$< 10^2$	9.90×10^7	10^3	4.44×10^4	$< 10^2$	5.60×10^7	10^3
ABR.	2.32×10^7	10^4	1.46×10^7	10^5	5.48×10^7	10^4	4.38×10^7	10^5
MAY.	3.60×10^6	10^4	4.3×10^7	10^5	1.0×10^7	10^5	3.73×10^7	10^4
JUN.	2.29×10^6	10^3	3.50×10^4	10^4	6.08×10^6	10^5	5.46×10^5	10^4

DISCUSIÓN

Del análisis microbiológico de las muestras de agua se pueden hacer los siguientes comentarios: la estación 1 presentó la menor densidad de coliformes y sólo en el 60% de las muestras se detectaron coliformes fecales, en cambio en la estación 2 se detectaron en todas y en las estaciones 3 y 4 en el 86% de ellas. No existió un patrón regular a lo largo del año en la densidad bacteriana, ya que fueron varios los factores que intervinieron para determinar la calidad microbiológica en el agua de

riego como el lavado ocasionado por las lluvias de drenajes naturales de áreas vecinas, fallas en la planta tratadora de aguas residuales debido principalmente a cortes de energía eléctrica, la presencia de patos en los reservorios de agua tratada, el tiempo de almacenamiento y la contaminación del sistema de riego. De los 60 muestreos en 16 de ellos se rebasó la Norma Mexicana (NOM-003-ECOL-1997) de 1,000 coliformes fecales /100ml, límite máximo permisible para aguas residuales tratadas con contacto indirecto u ocasional, las muestras de las estaciones 3 y 4 fueron las que rebasaron la norma con mayor frecuencia.



Con respecto a las bacterias del aire durante el mes de marzo de 2002 se encontraron coliformes fecales, debido probablemente a la fertilización con abono orgánico en forma de excremento. Durante la temporada de secas la densidad bacteriana osciló entre 10^4 y 10^6 UFC/ m^3 , en cambio durante la temporada de lluvias se mantuvo generalmente en el orden de 10^3 y ocasionalmente 10^4 . Es importante señalar que en febrero de 2003 se fertilizó con otro tipo de abono orgánico y no se detectó la presencia de coliformes.

En el aire se aislaron tanto bacterias Gram positivas como Gram negativas, correspondiendo aproximadamente el 85% a Gram positivas, entre ellas estafilococos, y el 15% a Gram negativas, coliformes principalmente. Salvo algún estafilococo, parece ser que la mayoría de las bacterias no representan un peligro para la salud, aunque para afirmar esto es necesario un estudio más completo.

Al analizar la micoflora del aire se encontraron tanto especies frecuentes como *Cladosporium herbarum*, *Alternaria* spp y *Curvularia* sp y especies temporales como *Aspergillus*, *Fusarium*, *Nigrospora* y *Botrytis*, entre otras. Los muestreos que coincidieron después de fuertes lluvias o durante fuertes vientos mostraron una baja densidad o

ausencia de esporas. Las especies identificadas fueron casi las mismas que se encontraron en 1995 y nuevamente se encontraron especies que producen alergias como *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria alternata* y *Cladosporium herbarum*.

La densidad de coliformes en el pasto fue muy alta, manteniéndose casi todo el año en el orden de 10^7 UFC/g, y la de coliformes fecales del orden de 10^4 , esto se explica por la presencia de coliformes en el agua de riego y por el tipo de abono que se utilizó. La presencia de *Salmonella* fue ocasional, solamente en el 10% de los muestreos, sin embargo esto representa un riesgo para la salud. Aunque la temporada de lluvias fue mejor que en años anteriores, el agua de lluvia no disminuyó la densidad de coliformes y aunque se cambió el tipo de abono parece ser que las coliformes fecales y enteropatógenos presentes en el agua de riego, al llegar al sustrato sólido encontraron un medio idóneo para reproducirse.

CONCLUSIONES

La calidad microbiológica del aire es buena, ya que al dejar de utilizar el abono orgánico, en forma de excremento, no se aislaron coliformes

fecales en este medio, por lo que se recomienda continuar abonando los jardines con abono orgánico de origen vegetal.

El agua de riego no siempre tiene la calidad microbiológica adecuada señalada por la norma ecológica respectiva, por lo que los jardines se contaminan y presentan valores de coliformes

fecales muy altos, los cuales son una amenaza para la salud si se tiene contacto directo con ellos, por lo que debe evitarse dicho contacto. Es recomendable añadir cloro al agua de riego, de tal manera que se elimine a los patógenos, especialmente antes de la temporada de lluvias, con la dosis adecuada de tal manera que no se afecte a las áreas verdes.

BIBLIOGRAFÍA

- APHA, AWWA, APHA, AWWA, WPCF. 1995. Estandar Methods for the Examination of Water and Wastewater. 19th. ed. American Public Health Association. Washington, D.C.
- Brandi, G., M. Sisti & G. Amagliani. 2000. Evaluation of the environmental impact of microbial aerosols generated by wastewater treatment plants utilizing different aeration systems. *J. Of Applied Microbiology* 88 : 845-852.
- Lin, X., T.A. Reponen, K. Willeke, S.A. Grinshpun, K.K. Foarde & D.S. Ensor. 1999. Long-term sampling of airborne bacteria and fungi into a non-evaporating liquid. *Atmospheric Environment* 33: 4291-4298.
- Pardavé-Díaz, L. M. y F.J. Flores-Tena. 1997. Hongos del aire de la Ciudad de Aguascalientes. *Tópicos de Investigación y Posgrado* V (2): 85-89.
- Pillai, S.D., K.W. Widmer, S.E. Dowd & S.C. Ricke. 1996. Occurrence of airborne bacteria and pathogen indicators during land application of sewage sludge. *Applied and Environmental Microbiology* 62 (1): 296-299.
- Rosas, P. I., A. Yela, E. Salinas y E. Calva. 1994. Bacterias entéricas en la atmósfera. *Ciencia y Desarrollo* 118: 52-57.
- Smith, E.G. 1990. Sampling and identifying allergenic pollens and molds. Blewstone Press. San Antonio. 196 pp.